

ÉRTEKEZÉSEK

EMLÉKEZÉSEK

FLERKÓ BÉLA

LH-RH

NEURONRENDSZER



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

ÉRTEKEZÉSEK
EMLÉKEZÉSEK

ÉRTEKEZÉSEK EMLÉKEZÉSEK

SZERKESZTI
TOLNAI MÁRTON

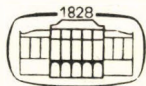
FLERKÓ BÉLA

LH–RH

NEURONRENDSZER

AKADÉMIAI SZÉKFOGLALÓ

1983. MÁRCIUS 15.



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

A kiadványsorozatban a Magyar Tudományos Akadémia 1982.
évi CXLII. Közgyűlése időpontjától megválasztott rendes és
levelező tagok székfoglalói — önálló kötetben — látnak
napvilágot.

A sorozat indításáról az Akadémia főtitkárának 22/1/1982.
számú állásfoglalása rendelkezett.

ISBN 963 05 3916 0

© Akadémiai Kiadó, Budapest 1984, Flerkó Béla

Printed in Hungary

A luteinizáló hormon-releasing hormon — röviden LH–RH — tíz aminosavból álló deka-peptid, ami a hypophysisből kiüríti — ezért nevezzük releasing hormonnak — a luteinizáló és tüszőérlelő hormont, azaz az LH-t és FSH-t. Minthogy az ovulatiót FSH secretiót követő nagy mennyiségű luteinizáló hormonnak a vérpályába történő igen gyors leadása váltja ki, nyilvánvaló az LH–RH alapvető biológiai jelentősége a peteszolgáltatás megindításában. Az LH–RH és serkentő analógjai szintézisének megoldása új lehetőségeket tárt fel az emberi és állati termékenység fokozására. Másrészt számos LH–RH analógot szintetizáltak és szintetizálnak világszerte ma is annak reményében, hogy olyan molekulát sikerült előállítani, ami nem serkenti, hanem éppen gátolja az FSH és LH vérpályába történő leadását, azaz a petefészki tüszőérést és ovulatiót, ami a jelenleg használatos szteroid hormon-tartalmú szerek mellékhatásait nélkülöző antikoncepciens előállítását jelentené.

Az LH–RH és a még két ismert kémiai szerkezetű, hypophysis mellső lebeny hormon leadását befolyásoló, neurohormon szintézisének megvalósítását negyedszázados kemény kutatómunka előzte meg. Geoffrey Harris

(1948) volt oxfordi anatómus professzor 1948-ban közölte ama hypothesisét, hogy a hypophysis mellső lebenye különböző hormonjainak secretióját különböző, agysejtekben termelődő, és az idegsejtek tengelyfonalán keresztül az axoplasma áramlás útján az agyvelő eminentia medianának nevezett részébe jutó serkentő és gátló anyagok szabályozzák. A hypophysisnek az eminentia medianához fekvő, ún. tuberalis részében egy praecapillaris jellegű, sűrű érfonat helyezkedik el, ami az ún. felső hypophysis arteriákból ered. Ebből az érfonatból capillarisok nyomulnak az eminentia mediana (EM) agyszövetébe, majd hurokszerűen visszakanyarodnak a tuberalis adenohypophyser szövetbe, és ott az ún. portalis erekbe szedődnek össze. Ezek a mellső lebenyhez húzódó erek azért kapták a „portalis” elnevezést, mert — a vena portae kettős capillarizációjának megfelelően — a mellső lebenyben ismét capillarisokra oszolva látják el annak mirigyszövetét. Ugyancsak Harris (1948) ismerte fel a máj portalis érrendszerére emlékeztető kettős capillarizáció funkcionális jelentőségét a hypothalamus–hypophysis rendszerben, nevezetesen azt, hogy ez a különleges érrendszer alkalmas arra, hogy az agyban termelődő, és onnét az EM capillaris hurkaiba jutó serkentő és gátló anyagokat közvetlenül, azaz az általános keringés megkerülésével, és így felhígulás nélkül, a mellső

lebeny sejtjeihez juttassa. Ezen anyagok tehát az EM capillaris hurkain vagy azok szomszédságában végződő idegvégkészülékeken keresztül a capillaris hurkokba, innét pedig a portalis ereken át a mellső lebeny capillarisai-ba, illetve hormontermelő sejtjeihez jutnak. Feltételezése, hogy az agysejtekben termelődő serkentő és gátló anyagok a portalis érrendszeren keresztül közvetlenül, azaz relatíve magas koncentrációban, jutnak a mellső és közti lebeny sejtjeihez, teljes mértékben helytállónak bizonyult, bár e feltételezés publikálásától az első közvetlen bizonyíték közléséig több mint két évtized telt el.

Saffran és Schally (1955) írta le hypothalamus és EM kivonat ACTH elválasztását serkentő hatását, és a feltételezett hatóanyagot corticotrophin-releasing factornak (CRF) nevezték el. Ezt követte a luteinizáló hormon-releasing factor (LRF), majd a többi mellső- és köztilebeny-hormon releasing (ürítettő), illetve egyes hormonok inhibiting (gátló) faktorai létezésének indirekt kimutatása. Sok kutató azonban kétségbe vonta e faktorok létezését. Magam hallottam, amikor az 1961-ben Miami-ban tartott Első Nemzetközi Neuroendokrin Symposiumon az egyik legkiválóbb amerikai endokrinológus „lochnessi szörny”-nek, illetve a „Himalája-béli havasi embernek” (ti. amikről sokat beszélnek, de létezésüket bizonyítani

senkinek sem sikerült) nevezte a CRF-et, míg a többi releasing és inhibiting faktort — amiket ma már releasing és inhibiting hormonnak nevezünk — „family of ghosts” vagy „watery illusions”-nak titulálták egyesek. Így nemcsak óriási erőfeszítés, hanem hatalmas lelkerő is kellett annak a munkának a folytatásához, ami a releasing és inhibiting hormonok izolálását és kémiai szerkezetük tisztázását célozta. A munkát anyagilag finanszírozók már éppen be akarták szüntetni e kutatások támogatását, amikor egymástól függetlenül az Andrew Schally (Böler és mtsai, 1969), illetve Roger Guillemin (Burgus és mtsai, 1969) vezette kutatócsoportok közölték a thyroidea stimuláló hormonnak a hypophysisből a vérpályába történő leadását serkentő neurohormon, a három aminosavból álló TSH-releasing hormon, rövidítve TRH, kémiai szerkezetét és szintézisét. Az LH–RH szintézisét 1971-ben Schally és mtsai (1971a,b), a somatostatinnak is nevezett és a növekedési hormon leadását gátló neurohormon szintézisét pedig 1973-ban Guillemin és munkatársai (Brazeau és mtsai, 1973) végezték el. E nagy eredményekért kapta Guillemin és Schally — Rosalyn Yalow-val együtt — 1977-ben az orvosi és élettani Nobel-díjat. Dr. Yalow volt a radioimmun hormon-mérési módszer egyik — még életben levő — kifejlesztője, amely módszer

nélkül Guillemin és Schally sem érhatték volna el kiemelkedő eredményeiket.

Schally először 1977-ben, még a Nobel-díj előtt, járt Budapesten és Pécsen a Magyar Tudományos Akadémia meghívására és a Magyar Endokrinológiai Társaság tiszteleti tagjaként.

A TRH, LH–RH, somatostatin ellen specifikus antiszérumokat termeltek, és segítségével lehetővé vált ezen neuropeptideket termelő és szállító idegsejtek és axonjaik közvetlen kimutatása, és így agyi lokalizációjuk meghatározása. Ez a lehetőség különösen az LH–RH vonatkozásában érdekelt nagyon engem és néhány munkatársamat, hisz magam három évtizede foglalkozom a gonadotroph hormon secretio idegi szabályozásának problémáival, köztük a releasing hormonokat, elsősorban az LH–RH-t termelő neuronok agyi lokalizációjának kérdésével is. Ennek közvetlen módszerrel történő vizsgálatához immuncitokémiai módszer és specifikus antiszérum kellett, ami 1973-ban még csak Guillemin vagy Schally laboratóriumából volt beszerezhető. Schally, akit szintén érdekelt az LH–RH-t tartalmazó neuronok agyi lokalizációja, látott el bennünket éveken keresztül a laboratóriumában Akira Arimura által előállított LH–RH antiszérummal; ma már az intézetünkben előállított antiszérumot használjuk. Kezdet-

ben, 1973-ban, a Nakane által kidolgozott indirekt peroxidázzal jelölt antitest módszert (Mazurkiewicz és Nakane, 1972; Nakane és Kawaoi, 1974) használtuk, amit Sétáló György munkatársam Denverben sajátított el a módszer kidolgozójától; ma már a módszer Sternberger és munkatársai (1970), illetve Görcs Tamás munkatársam által módosított változatát (Görcs és mtsai, 1983) használjuk. A továbbiakban ismertetendő vizsgálatokat Sétáló György, Vigh Sándor, Merchenthaler István és Horváth Judit munkatársaimmal végeztük. Az idevágó közlemények egy részében Andrew Schally és Akira Arimura is társszerzők. A kutatómunka anyagi feltételeinek biztosításáért e helyt is köszönetet mondok a Magyar Tudományos Akadémiának.

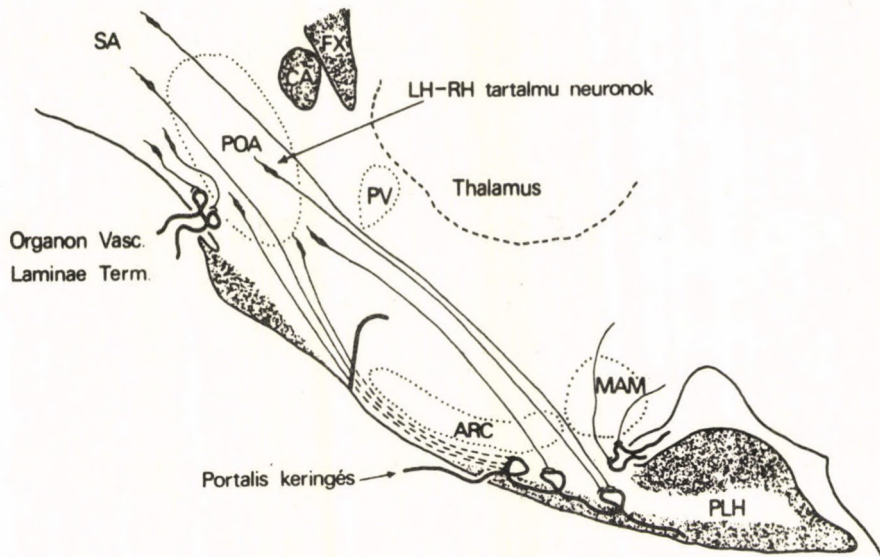
Minthogy a gonadotroph hormon secretio idegi szabályozására vonatkozó vizsgálatainkat zömében fehér patkányokon végeztük és végezzük, és minthogy ilyen típusú vizsgálatokhoz a leginkább használt kísérleti állat még mindig a fehér patkány, érthető módon elsősorban ennek a speciesnek az LH–RH neuronrendszerét kívántuk minél pontosabban feltérképezni. Szentágothai (1964) és Halász (1968; Halász és mtsai, 1962) korábbi indirekt adatai alapján először a hypothalamus medialis basalis részét vizsgáltuk. Az Arimura és Schally által előállított antiszérumot használva, az

indirekt peroxidázzal jelölt antitest módszer segítségével először egy vékony, LH–RH tartalmú idegrostokból és végkészülekeikből álló agypályát találtunk a patkány eminentia medianájában. A vékony idegrostokból álló agypálya a hypothalamus suprachiasmaticus régiójában még egységes, az agy felszínéhez közel elhelyezkedő idegrost tömeg, ami caudalisabban, a 3. agykamra alsó részének kétoldalán levő arcuatus mag-területen két, lateralisan elhelyezkedő kötegre válik szét. LH–RH tartalmú idegsejtet egyet sem találtunk az arcuatus mag területében, és csak elvétve láttunk egy-egy nagyon gyengén festődő, LH–RH tartalmú idegsejtet olyan patkányok septalis, praeopticus és suprachiasmaticus areájában, amely állatokat az oestrus ciklus dioestrikus fázisának végén vagy a pro-oestrus fázis elején öltünk meg (Sétáló és mtsai, 1976). A sejteknek az idegrostokhoz viszonyítottan elenyészően csekély számát annak tulajdonítottuk, hogy a neuronok perikaryon részei, azaz az idegsejtek, rendkívül kevés LH–RH-t tartalmaznak, ami módszerünkkel nem, vagy csak elvétve mutatható ki. Ezért növelni törekedtünk a perikaryon részek neurohormon tartalmát olyan kísérleti módszerrel, ami gátolja az LH–RH-nak termelődési helyéről, azaz az idegsejtből, az axoplasma áramlás által a végkészülék felé történő transzportját, oly módon, hogy a

látóideg kereszteződés mögött az ún. Halász-féle késsel (Halász és Pupp, 1965) frontális síkban átmetszettük az agyalapon elhelyezkedő LH–RH tartalmú idegrostokat. Így megakadályoztuk az LH–RH-nak az idegsejtből a végkészülék felé történő folyamatos elvándorlását, aminek eredményeként a neurohormon felszaporodott az átmetszett axonú idegsejtekben, és módszerünkkel kimutathatóvá vált. A chiasma mögötti frontális metszést követően a patkányok septalis, praeopticus és suprachiasmaticus agyterületeiben, tehát főleg a commissura anterior és a chiasma közti területben, voltak nagyobb számban LH–RH-t tartalmazó idegsejtek kimutathatók. Ha viszont a hypothalamusnak az arcuatus és ventromedialis magokat tartalmazó medialis, basalis részét teljesen izoláltuk az agy többi részétől, két héttel a műtét után megölve az állatokat, az izolált hypothalamus-szigetben nem vagy csak elvétve láttunk LH–RH tartalmú rostokat, ami azt mutatta, hogy a hypothalamus medialis, basalis részében, az arcuatus és ventromedialis magokban, nincsenek LH–RH-t szintetizáló idegsejtek. Ha viszont csak egy frontális metszést ejtettünk a chiasma mögött, a hypothalamus medialis basalis részében, főleg az EM-ban, sok LH–RH tartalmú rostot találunk (Sétáló és mtsai, 1976). Ez arra utalt, hogy a hypothalamikus LH–RH tartalmú rostok

eredősejtjei főleg a septalis-praeopticus, valamint a prae- és suprachiasmatikus areában vannak (1. ábra) és innét részben közvetlenül az agyalapon, részben azonban magasabban, az 1. ábrán görbült fekete vonallal jelzett metszési sík felett, húzódnak végződési helyükre; az eminentia mediana (EM) és a hypophysisnyél oralis részének capillaris hurkaihoz. Ez utóbbi magasabban húzódó rostokat nem metszette át frontális metszésünk és ezért láttunk ezt követően számos LH–RH tartalmú rostot az EM-ban. Ezzel összhangban intakt patkányban is LH–RH tartalmú idegrostokat találtunk a 3. agykamra két oldalán levő, ún. periventricularis agyállományban. Ezek a rostok leszállnak a 3. agykamra két oldalán, áthaladnak az arcuatus mag állományán és az EM capillaris hurkaiban végződnek. LH–RH tartalmú rostok azonban nemcsak az EM-ban végződnek. Főleg a medialis praehiasmaticus areában levő LH–RH tartalmú idegsejtek axonjai az ún. organon vasculosum laminae terminalis capillaris hurkain végződnek (1. ábra).

LH–RH neuron átmetszéses kísérleteink tehát támogatták azon feltevésünket, hogy intakt patkányban azért nem, vagy csak elvétve láttunk LH–RH tartalmú idegsejteket, mert az idegsejtből, azaz az LH–RH synthesis helyéről, az axoplasma áramlás folyamatosan az idegvégkészülékek felé továbbítja a neurohor-



1. ábra

monokat, s így az a módszerünkkel történő kimutatáshoz elégséges mennyiségben nem tud a perikaryonban felhalmozódni. Annál is inkább nem, mert a fehér patkány rövid ciklusú állat lévén 4 vagy 5 naponként ovulál, amikor is a végkészülékekben tárolt LH–RH onnét kiürül, megindítván az ovulációs folyamatot. Ha ez így van, úgy véltük, hogy nem közösült házinyúlban az axoplasma áramlást meggátló átmetszés nélkül is LH–RH tartalmú idegsejteket kell látnunk. A házinyúl ugyanis ún. provokáltan ovuláló fajta, azaz az ovuláció —



1. ábra. Patkány hypothalamus és hypophysis középvonalhoz közeli nyílrányú metszetének vázlata. A látóideg kereszteződés hátsó szélénél kezdődő, hátrafelé görbülő, vastag vonal a hypothalamus medialis, basalis (agyalapi) részét az agy többi részétől homlokirányú síkban elválasztó, ún. frontális metszés lefutását jelzi. A septalis (SA), praeopticus (POA) és suprachiasmaticus areában levő, LH–RH-t tartalmazó idegsejtekből kilépő ép axonrészeket folyamatos, a metszésvonaltól distalisan lévő, elpusztult axonrészeket szaggatott vonal jelzi. Rövidítések: ARC = nucleus arcuatus, CA = commissura anterior, FX = fornix, MAM = mammillaris regio, PLH = a hypophysis hátsó (idegi) lebenye, POA = area praeoptica, PV = nucleus paraventricularis, SA = septalis area. Adenohypophysis (a hypophysis mellső és közti lebenye, valamint az eminentia medianát borító pars tuberalisa) pontozva.

és így az idegvégkészülékekből történő LH–RH leadás is — csak a közösülést követően lép fel e speciesben. Reális volt tehát annak feltételezése, hogy a genitális apparátusból a közösülés alatt származó idegi impulzusok hiányában relatíve nagy mennyiségű LH–RH fog felhalmozódni az LH–RH neuronok idegsejtjeiben, s így az módszerünkkel minden előzetes kísérletes beavatkozás nélkül kimutatható lesz, ellentétben a patkánnyal. Ezért egyrészt virginális nőstény nyulak agyát vizsgáltuk, másrészt olyan nőstény nyulakét, amelyeket néhány órával a közösülés után megöltünk. Ellentétben a patkánnyal a kezeletlen virginális nyulak agyában mind a septalis, praeopticus, suprachiasmaticus és periventricularis, mind a patkány nucleus arcuatus-ventromedialis régiójának megfelelő, ún. tuberalis régióban LH–RH tartalmú idegsejteket láttunk.

Az említett agyterületeken kívül LH–RH-t tartalmazó idegrostokat, és helyenként idegsejteket, találtunk az intakt, virginalis nyúl mammillaris régiójában, thalamusában, a stria terminalis és medullaris thalamiban, a commissura habenularumban, a habenula medialis magvában, a habenulo-peduncularis köteg kezdeténél és végénél, valamint a Broca-féle diagonális tekervényben, illetve a bulbus és tractus olfactoriusban a perifornicalis régióban és a mesencephalon elülső részében (Flerkó és

mtsai, 1978). Jóllehet a nyúl agyának LH–RH tartalmára vonatkozóan kvantitatív vizsgálatokat nem végeztünk — mint várható volt —, az LH–RH tartalom jelentősen csökkent a közösülést követően.

Ezek az észleletek támogatják azon felfogásunkat, hogy a provokáltan, azaz csak a genitális apparátusból a közösülés kapcsán eredő idegingerekre ovuláló nyúl LH–RH neuron rendszerében az ovulatiót megelőzően jóval több LH–RH raktározódik, mint a rövid genitális ciklusú patkányéban, és az LH–RH mennyiség ovulatiót követő csökkenése immunhisztológiai módszerrel is világosan kimutatható (Flerkó és mtsai, 1978).

Eddigi vizsgálataink alapján úgy tűnt, hogy a házinyúl LH–RH neuronrendszere kiterjedtebb anatómiai lokalizációt mutat, mint a patkányé. Amint említettem, az intakt virginális nyúl agyának számos olyan részében is találtunk LH–RH tartalmú idegelemeket, amely részeiben a patkány agyának ilyen struktúrát nem láttunk; gondolok itt pl. a mammillaris régióra, a bulbus és tractus olfactoriusra stb. Nehéz lett volna azonban azt elfogadnunk, hogy két ilyen egymáshoz közelálló species LH–RH neuronrendszerében ilyen nagy anatómiai különbség legyen. Ezért olyan patkányokon vizsgáltuk a továbbiakban az LH–RH neuronrendszer anatómiáját, amely

állatok egész agyára kiterjedően gátolni tudtuk az LH–RH-axoplasmatikus transzportját vagy a végkészüléknél történő leadását. E célból olyan patkányokon tanulmányoztuk az LH–RH rostrendszereket, amely állatoknak a megölés előtt 10 napon át naponta testsúlykg-onként 60 mg sulpiridet vagy 1 mg reserpint adtunk intraperitoneálisan (Vígh és mtsai, 1978). A sulpirid egy ovulatio-gátló pharmacon, tehát feltehetően gátolja az LH–RH-nak az EM capillaris hurkaiba történő leadását. A reserpinről viszont tudtuk, hogy kiüríti a norepinephrint, ami Timával (Tima és Flerkó, 1974) végzett vizsgálataink szerint serkenti az LH–RH-nak az EM capillarisába történő leadását. Mindkét módszer alkalmasnak látszott tehát az LH–RH axonokból történő leadásának gátlására, és így a neuronok LH–RH-val történő feltöltésére, ami megkönnyíti kimutatásukat. Valóban, a sulpiriddel vagy reserpinnel kezelt patkányok agyában több helyen észleltünk LH–RH tartalmú rostokat, mint e kezelés nélkül vizsgált állatokban.

A már említett agyterületeken kívül LH–RH-t tartalmazó axonokat találtunk a sulpiriddel vagy reserpinnel kezelt patkányok organon vasculosum laminae terminalisában, a Broca-féle diagonalis tekervényben, a tractus olfactoriusban, a subfornicalis szervben, a stria medullaris- és terminalisban, a temporalis le-

benyben, főleg az amygdala körül, a pyriform cortexben, a látóideg kereszteződés alatt és felett, valamint a mesencephalonban és a hippocampusban (Vígh és mtsai, 1978). Ezek az eredmények tehát azt mutatják, hogy a patkány LH–RH neuronrendszerének kiterjedése lényegében azonos a nyúléval, de ennek kimutatásához patkányban — a már említett okoknál fogva — gátolni kell az LH–RH axoplasmatikus transzportját, illetve az idegvégkészülékeknél történő leadását.

A bemutatott módszerekkel ki tudtuk mutatni, hogy milyen agyrészekben vannak LH–RH tartalmú neuronok idegsejtjei, axonjai vagy végkészülékei, de semmi biztosat nem mondhattunk a különböző idegpályákban futó rostok eredetéről és lefutásáról. További vizsgálataink célja tehát az volt, és jelenleg is az, hogy kiderítsük a különböző LH–RH tartalmú idegrostkötegek eredősejtjeinek lokalizációját és meghatározzuk az eredősejtekből kilépő axonok pontos lefutását és végződési helyét.

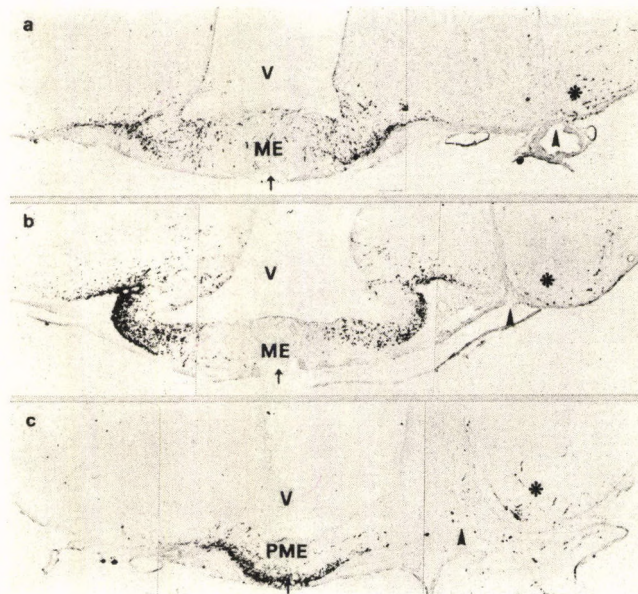
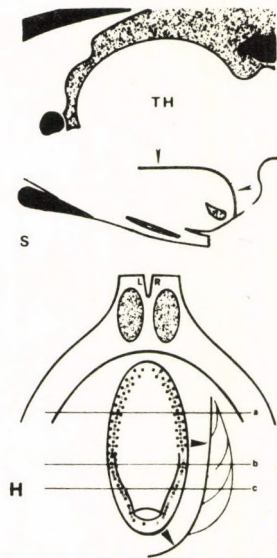
Az EM capillaris rendszerén végződő LH–RH rostok zöméről — mint már említettem — feltételeztük, hogy eredősejtjeik a septalis, suprachiasmaticus és főleg a praeopticus areában vannak. Ezért tractus praeoptico-infundibularisnak neveztük e rostkötegeket. E feltevésünk bizonyítására különböző típusú metszéseket hoztunk létre Halász-késsel a

hypothalamus medialis, basalis része körül. Majd a metszések mindkét oldalán tanulmányoztuk a neurohormon felgyülemelését, hogy lássuk milyen irányból érik el, ill. hagyják el a hypothalamus medialis, basalis részét a LH–RH tartalmú axonok. Tanulmányoztuk továbbá az agyvelő többi részétől izolált agyterületeken belül az LH–RH tartalmú rostoknak az átmetszést követő idegrost degeneráció következtében fellépő csökkenését vagy eltűnését, hogy kimutathassuk a különböző agyterületekről érkező LH–RH tartalmú rostoknak az EM-n belüli megoszlását (Merchen-thaler és mtsai, 1980). Ilyen kísérletekből nyert információk nélkül bármely agyterületben legfeljebb csak spekulálhatunk az LH–RH tartalmú rostok lefutási irányáról.

A tractus praeoptico-infundibularis ilyen vizsgálatahoz kísérleti állatainkat négy csoportba osztottuk, és hypothalamusuk medialis, basalis részének jobb oldalát deafferentáltuk, azaz Halász-késsel kisebb-nagyobb mértékben izoláltuk az agy többi részétől. A műtétekhez használt Halász-kés pengéjének radiusa 1,2 mm, hossza pedig 2 mm volt. Az állatokat valamennyi kísérleti csoportban az utolsó műtéti beavatkozás után legalább két hétig életben tartottuk, de sokat közülük csak 5–6 héttel később öltünk meg. Az egyéni variációk csökkentése és az agyban minél nagyobb

LH–RH mennyiség tárolása érdekében az állatokat vagy a dioestrus fázis végén, vagy a prooestrus fázis reggelén öltük meg (Merchenthaler és mtsai, 1980).

A 2. ábra sagittalis (2S ábra) és horizontalis (2H ábra) síkban készült, vázlatos rajzon mutatja az I. típusú deafferentációt, valamint frontalis agymetszetekről (2a, b és c ábra) a deafferentáló metszés következményeit. A metszési vonalakat valamennyi ábrán nyílhegyek jelzik. E kísérleti csoportban a bajonett alakú Halász-kést úgy süllyesztettük sagittalis síkban az agyba, hogy a kés pengéje hátrafelé irányult. Elérve az agyalapot a mammillaris régióban a pengét 90 fokkal jobbra fordítottuk el, és különös gondot fordítva arra, hogy a penge csúcsa mindig elérje a koponyaalapot, a metszést a parasagittalis síkba előre felé folytattuk az agycélzó készülék késtartójának orális irányba történő elmozdításával (2H ábra). A metszés elülső vége ugyan állatról állatra változott, de az esetek többségében a hypothalamus medialis, basalis részének elülső harmadában végződött. Ily módon a hypothalamus kupola alakú medialis, basalis részének jobb oldali hátsó negyedét deafferentálta ez a metszés (2S ábra). — A horizontalis síkban készített rajzon (2H ábra) a, b és c vonalak jelzik a három fényképen ábrázolt metszet helyzetét; R (right) jobb, L (left) bal oldalt jelez. A metszésvonalat



2. ábra

kívülről megközelítő görbült vonalak szimbolizálják az LH–RH felgyülemleést mutató átmetszett axonokat. Üres és kitöltött karikák pedig az ellenoldali, ill. sajátoldali LH–RH tartalmú rostok végkészülékeit jelzik. — Az „a” metszés előtti részben az LH–RH tartalmú



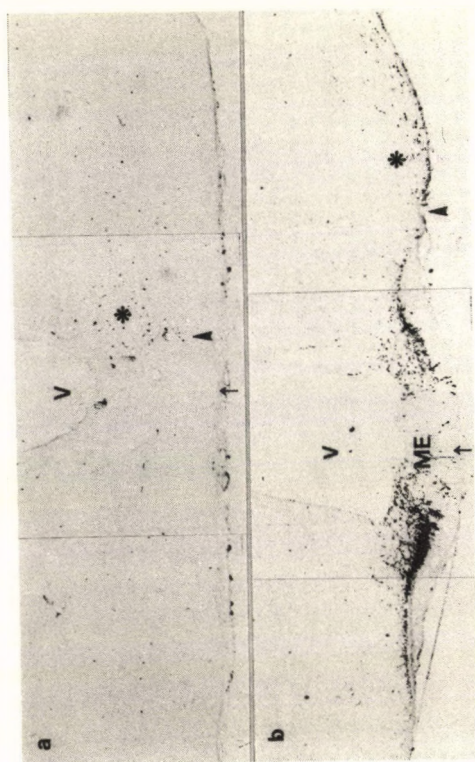
2. ábra. Az I. típusú deafferentatio sémás vázlata sagittalis (S) és horizontális (H) síkban, valamint a deafferentáló metszést bemutató, frontális síkban készült mikrofotogramok (a–c). Valamennyi ábrán nyílhegyek mutatnak a metszésvonalra. Azonos betűkkel jelzett vonalak mutatják az (a–c) mikrofotogramok helyzetét a H ábrán; ugyanitt R jobb, L bal oldalt jelez. A H jelzésű ábrán a metszésvonalat kívülről megközelítő, görbült vonalak az átmetszett és ennek következményeképp LH–RH felgyülemleést mutató axonokat jelzik. A kitöltött, illetve üres karikák az azonos, illetve ellenoldali eredésű, LH–RH-t tartalmazó axonok végkészülékeit szimbolizálják. Az EM rostralis felében a két oldal LH–RH immunreakciójában nem találtunk különbséget még azokban a síkokban (a) sem, ahol már jelen van a metszésvonal. Caudalisabban azonban (b és c) már világosan látszott a deafferentált oldalon az LH–RH tartalmú rostok és végkészülékek számának csökkenése. Az (a–c) mikrofotogramokon az átmetszett axonokban az LH–RH felgyülemleését (csillaggal jelezve) mindig a metszésvonalon kívül láthatjuk; kis nyilak jelzik a középvonalat. ME = eminentia mediana, PME = eminentia mediana hátsó része, V = 3. agykamra. TH = thalamus. Kb. 50 × nagyítás az (a–c) ábrákon. Merchenthaler és mtsai (1980) közleményéből az Elsevier–North-Holland Biomedical Press (Amsterdam) engedélyével.

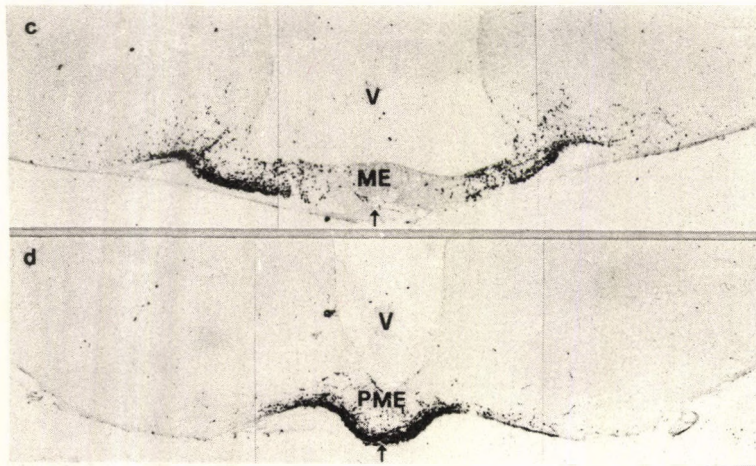
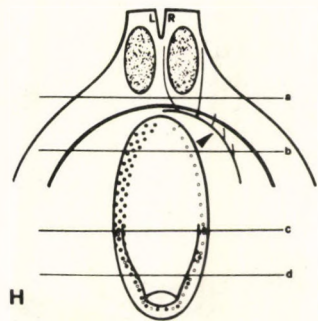
rostok mennyiségét és eloszlását tekintve semmiféle különbség nem volt a hypothalamus két fele között. Ugyanez a helyzet a már deafferentált hypothalamus-terület elülső részén is. Jóllehet a nyílhegyekkel jelzett metszéstől lateralisan, a csillaggal jelzett, átmetszett idegrostokban az LH–RH felgyülemzése nyilvánvaló volt, az átmetszett axonok hiányzó, ti. degenerált, distalis részei csak caudalisabban okoztak kimutatható LH–RH tartalmú rosthányt (2H a, b és c ábra). A hypothalamus deafferentált és nem-deafferentált két fele közti különbség az EM caudalis részében is megfigyelhető volt, de az LH–RH-nak a metszésvonalakon kívüli felgyülemzése a metszés caudalis vége felé haladólag mind gyengébbé vált.

A II. csoportban a metszés a középvonalban közvetlenül a chiasma opticum hátsó szélénél indult. A kést 90 fokkal jobbra fordítva a metszés hátrafelé haladt a parasagittalis síkban, és a hypothalamus medialis, basalis részének közepéig vagy hátsó harmadáig tartott (3H ábra). Ily módon, egy kupolaszerű felszín jobb elülső negyedéből a hypothalamus medialis, basalis részébe húzódó összes afferens rostot átvágtuk (3S ábra). Ezért nem láthatunk a 3H ábrán jobb oldalt és elöl kitöltött karikákat, amelyek azonos oldali LH–RH rostok végkészülékeit jelzik; ezek ugyanis az átmetszést követően mind degeneráltak és

elpusztultak. Amint már említettem, az üres karikák — amiket jobb oldalt elöl láthatunk — az ellenoldalról átjött LH–RH rostok végkészülékeit reprezentálják. A deafferentált hypothalamus területben látható LH–RH rostsám csökkenéssel párhuzamosan (3H ábra) a metszés külső oldalán végig LH–RH felhalmozódása figyelhető meg (3a és b ábra). A metszés oldalán az LH–RH rostok gyérülése azonban mind kevésbé feltűnő, ahogy mindinkább a metszés caudalis vége mögé jutunk. Az LH–RH rostok relatív hiánya még a metszés síkja mögött is jól látható, ha pl. a 3c ábrán a deafferentált oldalt az ép oldallal összehasonlítjuk. Hátrább azonban már eltűnik ez a különbség, amint azt a 3d ábrán láthatjuk; itt már gyakorlatilag nincs különbség a hypothalamus két fele, ti. a deafferentált és nem-deafferentált fél között; ugyanannyi rostot látunk mindkét oldalon.

A III. csoportban a metszés ugyanott kezdődött, mint a II. csoportban, azonban hátrafelé mindaddig folytatódott, míg el nem érte a középvonalat a mammillaris régióban. Ily módon a hypothalamus medialis, basalis részének teljes jobb fele idegileg izolálódott az agy többi részétől (4S és H ábra), kivéve azt a kisméretű agyi összeköttetést, ami az ellenoldali agyfélteke felé a 3. agykamra fenekét képező vékony agyállomány, ti. az EM jelentett. A





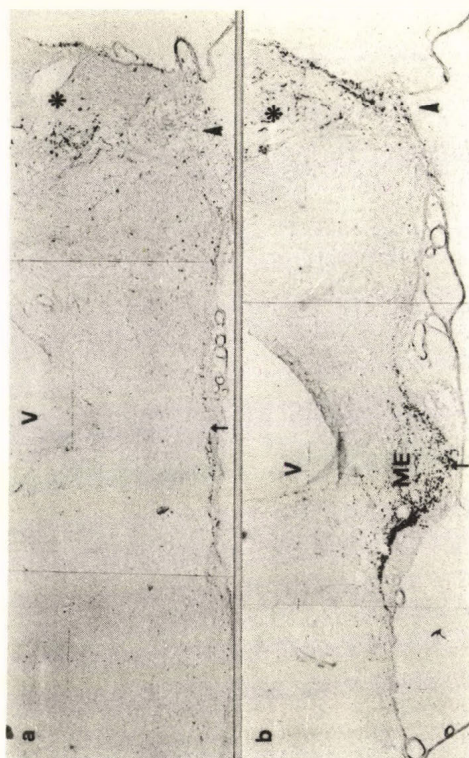
3. ábra

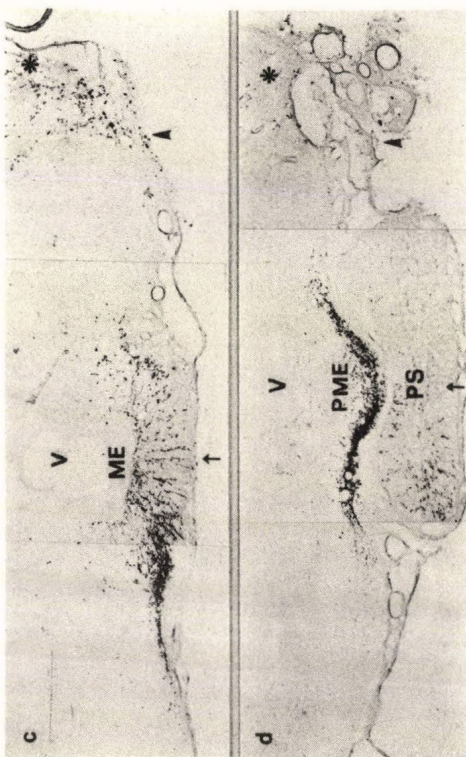
metszés oldalán csak üres karikákat (4H ábra) látunk, annak jeléül, hogy az izolált, deafferentált területben látható összes LH–RH tartalmú rost az ellenoldali agyféltekéből származik. Valamennyi állatban észleltük a metszésvonal külső oldalán az LH–RH axoplasmatikus



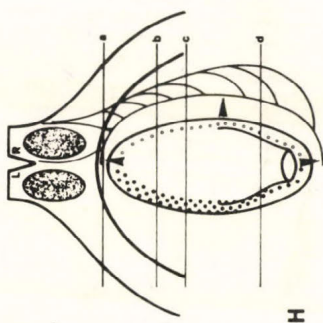
3. ábra. A II. típusú deafferentációt bemutató vázlatos rajz horizontális (H) és sagittalis (S) síkban, és a frontális síkban készült mikrofotogramok (a–d). Valamennyi ábrán nyílhegyek mutatnak a metszésvonalra. Azonos betűkkel jelzett vonalak mutatják az (a–d) mikrofotogramok helyzetét a H ábrán; ugyanitt R jobb, L bal oldalt jelez. A H jelzésű ábrán a metszésvonalat a rostro-lateralis irányból megközelítő, görbült vonalak az átmetszett és ennek következményeképp LH–RH felgyülemlelést mutató axonokat jelzik. A kitöltött, illetve üres karikák az azonos, illetve ellenoldali eredésű, LH–RH-t tartalmazó axonok végkészülékeit szimbolizálják. A metszés oldalán az LH–RH-t tartalmazó axonok számbeli csökkenése mind kevésbé kifejezett, ahogy mindinkább a metszésvonal caudalis vége mögé jutunk. Még a „c” síkban is világosan felismerhető az LH–RH rostok számbeli csökkenése a metszés oldalán, a „d” síkban azonban már gyakorlatilag nincs különbség a hypothalamus intakt és deafferentált oldala között. A kis nyílak a középvonalat mutatják. A csillagok a deafferentált hypothalamikus területen kívül az átmetszett axonokban felgyülemelő LH–RH-t jelzik. ME = eminentia mediana, PME = eminentia mediana hátsó része, V = 3. agykamra, TH = thalamus. Kb. 50 × nagyítás az (a–d) ábrákon. Merchenthaler és mtsai (1980) közleményéből az Elsevier–North-Holland Biomedical Press (Amsterdam) engedélyével.

transzportjának akadályozottságából adódó LH–RH felgyülemleést (4H a, b, c ábra), kivéve a metszés legcaudalisabb részét (4d ábra). Az LH–RH felgyülemleést mutató, átmetszett idegrostokat ezen az ábrán is csillaggal jelöltük. A hypothalamus deafferentált oldalán feltűnő az LH–RH tartalmú idegrostok számának jelentős csökkenése (4b és c ábra), bár látható, hogy a deafferentált oldalon is sok LH–RH rost élte túl a műtétet. A deafferentált oldalon a hypophysisnyélből is eltűnt az LH–RH rostok többsége, amint az a 4d ábrán jól látható. Az izolált, deafferentált hypothalamus-félben látható ép LH–RH rostok nyilvánvalóan vagy azonos-, vagy ellenoldali eredetűek. E kérdés megválaszolása céljából a IV. csoport állatainál először a két agyféltekét választottuk szét egy középvonali metszéssel (5H ábra). Kb. 3 héttel később Halász-késsel ugyanazt a metszést végeztük el, mint a III. csoport állatainál, és így a két metszéssel teljessé tettük a hypothalamus medialis, basalis része jobb felének izolálását az agy többi részétől (5S és H ábra). A deafferentált oldalon az üres és kitöltött karikák hiánya jelzi az LH–RH rostok teljes hiányát az izolált hypothalamus-félben (5H ábra). Ez esetben tehát a túloldalról átkereszteződő LH–RH rostok is hiányoznak a teljesen deafferentált hypothalamus-félből. Az 5a, b és c ábrákon a deafferentált hypothalamus-területből és az





4. ábra



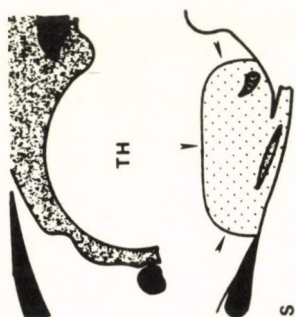
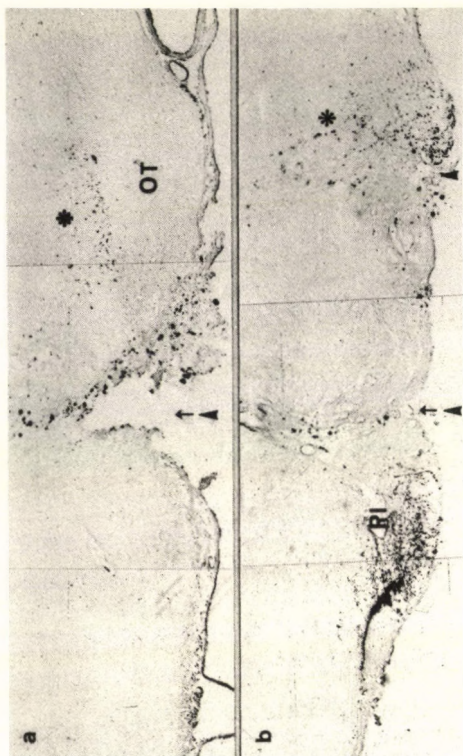
azonos oldali hypophysisnyél-félből (5d ábra) teljesen hiányoznak az LH–RH tartalmú idegrostok, míg a hypothalamus másik felében az

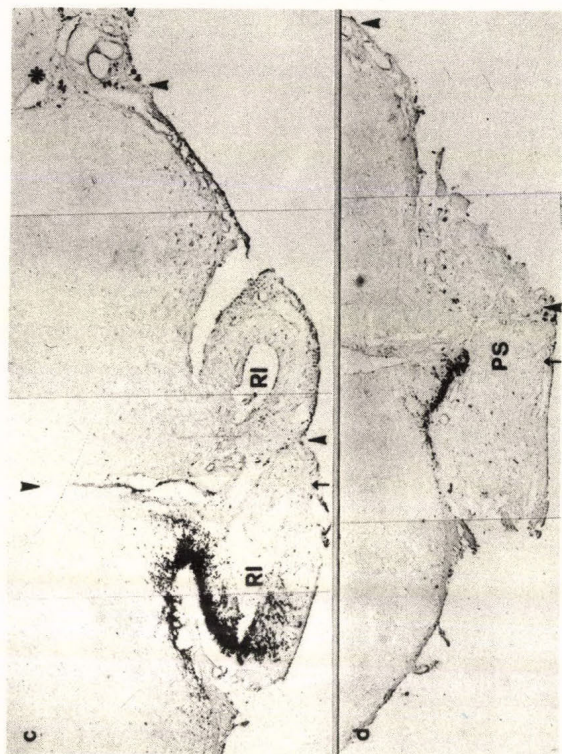


4. ábra. A III. típusú deafferenciációt sagittalis (S) és horizontális (H) síkban készült vázlatos rajzon, valamint frontális síkban készült mikrofotogramokon (a–d) bemutató ábra. Valamennyi ábrán nyílhegyek mutatnak a metszésvonalra. Azonos betűkkel jelzett vonalak mutatják az (a–d) mikrofotogramok helyzetét a H ábrán; ugyanitt R jobb, L bal oldalt jelez. A H jelzésű ábrán a metszésvonalat kívülről megközelítő, görbült vonalak az átmetszett és ennek következményeképp LH–RH felgyülemlelést mutató axonokat jelzik. A kitöltött, illetve üres karikák az azonos, illetve ellenoldali eredésű, LH–RH-t tartalmazó axonok végkészülékeit szimbolizálják. A metszés oldalán csak üres karikák vannak, ami arra utal, hogy a deafferentált oldalon látható LH–RH-t tartalmazó struktúrák kizárólag az ellenoldali agyfélből származnak. A másik oldalon viszont hiányoznak az ellenoldalról eredő, LH–RH-t tartalmazó axonok. (a–d) ábrákon a metszésvonalon (nyílheggyel jelezve) kívül levő csillagok jelzik az átmetszett és ennek következményeképp LH–RH felgyülemlelést mutató rostokat. Feltűnő az LH–RH immunreakciót mutató struktúrák számbeli csökkenése a deafferentált hypothalamus- és hypophysisnyél-(PS)-félben. A kis nyilak a középvonalat jelzik. V = 3. agykamra. ME = eminentia mediana, PME = eminentia mediana hátsó része, TH = thalamus. Kb. 50 × nagyítás az (a–d) ábrákon. Merchenthaler és mtsai (1980) közleményéből az Elsevier–North-Holland (Amsterdam) engedélyével.

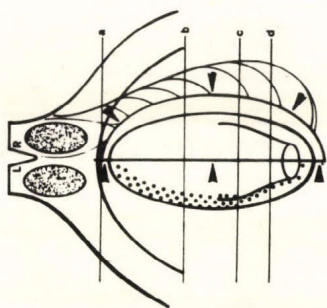
LH–RH rostrendszer normális szöveti képét látjuk.

E kísérleteink eredményei is bizonyítják, hogy — más speciesekkel ellentétben — a patkány hypothalamusának medialis, basalis részében nincsenek LH–RH-t szintetizáló idegsejtek. A teljesen deafferentált hypothalamus-féllel rendelkező patkányokban egyetlen LH–RH tartalmú rostot sem láttunk az izolált hypothalamus-félben, jóllehet a hypothalamus másik fele tele volt LH–RH-val, és ez a neurohormon a hypothalamus deafferentált oldalán is kimutatható maradt, de csak a metszésvonaltól laterális agyrészekben (5b és c ábra). E kísérletek eredményei is világosan mutatják, hogy az EM-ban végződő LH–RH rostok eredősejtjei patkányban a hypothalamus medialis, basalis részén kívül vannak. Az LH–RH-nak mindig a metszésen kívüli, azaz a metszésvonaltól laterálisan megjelenő, felgyülemzése bizonyítja ezt. Kísérleteink azt mutatták továbbá, hogy LH–RH rostok minden irányból érkeznek a hypothalamus medialis, basalis részébe, kivéve a legcaudalisabb irányt. Ez utóbbit a metszés legcaudalisabb, a középvonalhoz közel eső része mentén az LH–RH felgyülemzés teljes hiánya mutatta. Megfigyeléseink azt is bizonyítják, hogy a tractus praeoptico-infundibularishoz tartozó, különböző lefutású LH–RH rostkötegek





5. ábra



H

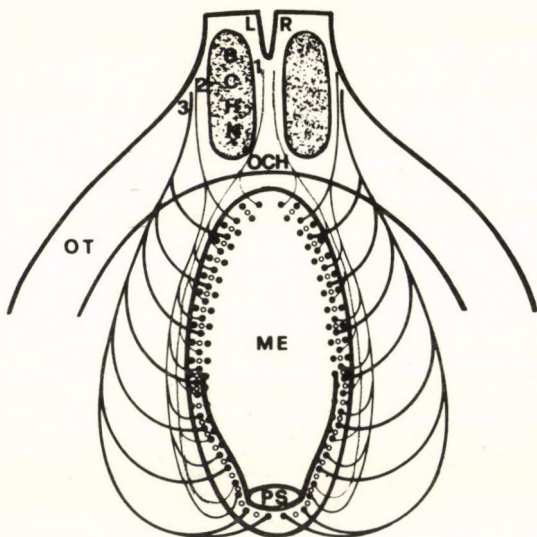
zömében a septalis és medialis praeopticus areában erednek, és különböző lefutással bár, de mind az EM-ban és a hypophysisnyél kezdeti részében levő portalis erek speciális capillaris-hurkain végződnek, és e rostkötegekben nincs



5. ábra. A IV. típusú deafferentációt bemutató vázlatos rajz sagittális (S) és horizontális (H) síkban, és a frontális síkban készült mikrofotogramok (a–d). Valamennyi ábrán nyílhegyek mutatnak a metszésvonalra. Azonos betűkkel jelzett vonalak mutatják az (a–d) mikrofotogramok helyzetét a H ábrán; ugyanitt R jobb, L bal oldalt jelez. A H jelzésű ábrán a metszésvonalat antero-laterális irányból megközelítő, görbült vonalak az átmetszett és ennek következményeképp LH–RH felgyülemlést mutató axonokat jelzik. Az üres és kitöltött karikák hiánya a deafferentált oldalon az LH–RH immunreaktív struktúráknak ezen oldalról történt teljes eltűnését jelzi. A hypothalamus intakt oldalán az üres karikák hiánya a középvonalat a deafferentatio területében keresztező, ellenoldali LH–RH axonok hiányát jelzi. (a–d): a hypothalamus medialis, basalis részének deafferentált oldalán, valamint az azonos oldali hypophysisnyél-félben teljesen hiányoznak az LH–RH immunreaktív struktúrák. A hypothalamus másik felében az LH–RH-t tartalmazó idegelemek normális eloszlását láthatjuk. Csillagok jelzik a metszésvonalon kívüli LH–RH felgyülemlést. Kis nyilak mutatnak a középvonalra. RI = 3. agykamra recessus infundibularisa, OT = tractus opticus, TH = thalamus. Kb. 50 × nagyítás az (a–d) ábrákon. Merchenthaler és mtsai (1980) közleményéből az Elsevier–North-Holland Biomedical Press (Amsterdam) engedélyével

olyan LH–RH tartalmú axon, amely ellentétes irányban futna.

A 6. ábra szemlélteti a patkány tractus praeoptico-infundibularisához tartozó, elsőként általunk leírt, s japán szerzők által rövidesen megerősített (Kawano és Daikoku, 1981), három rostkötegének lokalizációját. Arab számok jelzik a tractus praeoptico-infundibularis ún. median, medialis és lateralis kötegét. A median köteg páratlan és hurkot képez a látóideg kereszteződés körül. Egyik része közvetlenül a 3. agykamra fenekének ependyma-rétegén fekszik, a másik része a chiasma opticum és a tractus opticus ventralis felszínéhez, illetve a hypothalamus ventralis felszínének elülső részéhez fekszik. — A 2-es jelzésű medialis köteg először caudalis irányba fut, majd — elhúzódva a suprachiasmaticus mag lateralis szélé mellett — medialis irányba fordulva a retrochiasmaticus régióban csatlakozik a median köteghez. — A 3-as számú, ún. lateralis köteg először szintén latero-caudalis irányba fut, és a tractus opticus dorsomedialis szélén fekszik. Tovább húzódva caudal felé, rostjai fokozatosan medialis irányba fordulva érik el az EM-t. Mindhárom köteg rostjai végkészülékeket adnak az EM teljes hosszában és a hypophysisnyél legoralisabb részében lévő capillaris hurkokhoz. Ennek megfelelően ezen LH–RH kötegek bármelyikének pusztulása az

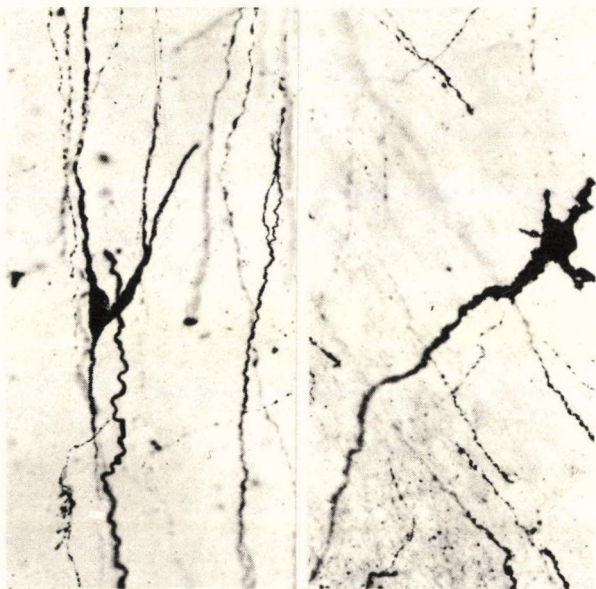


6. ábra. Vázolt vizsgálatainkból következtethetően a patkány LH–RH-t tartalmazó, ún. tractus praeoptico-infundibularisának az agyalap síkjára vetített vázlatos rajza. 1, 2 és 3 a praeoptico-infundibularis LH–RH pálya ún. median, medialis és lateralis kötegét jelzi. E kötegekben levő axonok végkészülékeket adnak le az EM teljes hosszában és a hypophysisnyél orális részében. A kitöltött, illetve üres karikák az azonos, illetve ellenoldali eredésű, azaz kereszteződő, LH–RH axonok végkészülékeit szimbolizálják. R = jobb oldal, L = bal oldal, OCH = chiasma opticum, OT = tractus opticus, ME = eminentia mediana, PS = hypophysisnyél, SCHN = nucleus suprachiasmaticus. Merchenthaler és mtsai (1980) közleményéből az Elsevier–North-Holland Biomedical Press (Amsterdam) engedélyével

LH–RH végkészülékek arányos hiányát okozza az EM-ban, ugyanakkor azonban nem lesz az EM-ban olyan rész, amelyben ne lenne LH–RH végkészülék. Vizsgálataink továbbá azt is bizonyítják, hogy a lateralis LH–RH kötegből származó rostok ferdén ívelt lefutással érik el az EM-t; következésképp az ilyen rostokat megszakító paramedian metszés LH–RH rost festődési hiányt mindig csak jóval caudalisabb síkban okoz, mint ahol a metszés kezdődik, és a festődési hiány még a metszés vége mögötti síkban is észlelhető. LH–RH rostoknak a hypothalamus egész ventralis felszínén mindenütt való előfordulása szükségessé teszi az immunhisztológiai ellenőrzést minden olyan kísérletben, amelyben különböző agyi metszéseket alkalmaztunk szaporodásbiológiai problémák tanulmányozásához. Ily módon a látszólag azonos, de különböző biológiai effektussal járó metszésekről kiderül, hogy azok nagyon is különbözőek. Vizsgálataink végül bizonyítják, hogy nagy számban vannak kereszteződő rostok a patkány praeoptico-infundibularis agypályájában. Ha a középvonal ép volt, LH–RH rostokat láttunk a hypothalamus deafferentált felében, és egy középvonali metszés kellett ahhoz, hogy az izolált hypothalamus-félben ne legyen LH–RH tartalmú idegrost. Az általunk kimutatott kereszteződő

LH–RH rostok anatómiai magyarázatát adják Tejasen és Everett (1967) azon észleletének, hogy féloldali praeopticus elektromos ingerlés LH secretiót indít meg akkor is, ha azonos oldalon a hypothalamus medialis basalis része roncsolva van a chiasma opticum mögött.

Mint említettem, a hypothalamusban levő, az előzőekben vázolt LH–RH tartalmú neuronok lokalizációjára vonatkozó adatainkat más szerzők is megerősítették, így a továbbiakban az extrahypothalamikus LH–RH rostok lokalizációját, illetve ezeknek más neurohormon vagy neurotransmitter tartalmú neuronokkal fennálló kapcsolatát kívánjuk tisztázni. E munkánkban nagy segítséget jelent az a metodikai újítás, melynek kapcsán legújabbán Görcs Tamás munkatársam sok próbálkozás után eredménnyel kapcsolta össze az LH–RH-t kimutató immunhisztológiai eljárást az egyetemünk idegsebészetén dolgozó neurokémikus, Gallyas Ferenc által kidolgozott ezüst-intenzifikálás módszerrel (Görcs és mtsai, 1983), ami lehetővé tette intakt patkányban nagyon kevés LH–RH-t tartalmazó idegsejtek összes nyúlványaikkal együtt történő kimutatását, amint ezt a 7. ábra LH–RH tartalmú idegsejtjei esetében láthatjuk. Az immunhisztológiai eljárás ezüsttel történő utánerősítése kb. két nagyságrenddel növelte a klasszikus peroxidáz-antiperoxidáz módszer érzékenységét, és az



7. ábra. Görcs és mtsai (1982) módszerével festett LH–RH-t tartalmazó neuronok. Kb. 280 × nagyítás.

immunreaktív neuron fénymikroszkópos képe megszólalásig hasonlít a Golgi-féle ezüstözéssel nyerhető, fény- és elektronmikroszkóppal jól vizsgálható képre. A nagyobb érzékenység miatt oly kevés LH–RH-t tartalmazó idegelemeket tudunk kimutatni e módszerrel, amik a klasszikus Nakane- vagy Sternberger-féle módszerrel nem, vagy alig láthatók. A Görcs-féle módszer (Görcs és mtsai, 1983) vastag

metszetben is lehetővé teszi az axon lefutásának pontos nyomonkövetését (7. ábra) és elektronmikroszkópos szinten — más neurohormonok hasonló módszerrel történő egyidejű kimutatásával — biztos alapot szolgáltat különböző neurohormontartalmú neuronok közti interakciók alapját képező anatómiai kapcsolatok kimutatásához (Liposits és mtsai, 1983, 1984a,b).

IRODALOM

- BÖLER, J.-ENZMANN, F.-FOLKERS, K.-BOWERS, C. Y.-SCHALLY, A. V.: The identity of chemical and hormonal properties of the thyrotropin-releasing hormone and pyroglutamyl-histidyl-proline amide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 37, 705-710 (1969)
- BRAZEAU, P.-VALE, W.-BURGUS, R.-LING, N.-BUTCHER, M.-RIVIER, J.-GUILLEMIN, R.: Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 179, 77-79 (1973)
- BURGUS, R.-DUNN, T. F.-DESIDERIO, D.-GUILLEMIN, R.: Structure moléculaire du facteur hypothalamique hypophysiotrope TRF d'origine ovine: mise en évidence par spectrométrie de masse de la séquence PCA-His-Pro-NH₂. *C. R. Acad. Sci. Paris (D)* 269, 1870-1873 (1969)
- FLERKÓ, B.-SÉTÁLÓ, G.-VIGH, S.-ARIMURA, A.-SCHALLY, A. V. (1978): The luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) neuron system in the rat and rabbit. In SCOTT, D. E.-KOZLOWSKI, G. P.-WEINDL, A. (eds): *Brain-Endocrine Interaction III. Neural Hormones and Reproduction. Proceedings of the Third International Symposium on Brain-Endocrine Interaction*, Würzburg, July 26-29, 1977, Karger, Basel, 1978, pp. 108-116
- GÖRCS, T.-LIPOSITS, ZS.-SÉTÁLÓ, GY.-FLERKÓ, B.: Light microscopical applications of the silver intensified diaminobenzidine (DAB) to immunocytochemistry. In ENDRŐCZI, E.-ANGELUCCI, L.-SCAPAGNINI, U.-DE WIED, D. (eds): *Neu-*

- ropeptides, Neurotransmitters and Regulation of Endocrine Processes. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1983, pp. 107-177
- HALÁSZ, B.: The trophic dependence of the anterior pituitary on the diencephalon; the hypophysiotrophic area of the hypothalamus. In SZENTÁGOTHAJ, J.-FLERKÓ, B.-MESS, B.-HALÁSZ, B.: Hypothalamic Control of the Anterior Pituitary, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1968, pp. 110-155
- HALÁSZ, B.-PUPP, L.: Hormone secretion of the anterior pituitary gland after physical interruption of all nervous pathways to the hypophysiotrophic area. *Endocrinology* 77, 553-562 (1965)
- HALÁSZ, B.-PUPP, L.-UHLARIK, S.: Hypophysiotrophic area in the hypothalamus. *J. Endocr.* 25, 147-154 (1962)
- HARRIS, G. W.: Neural control of the pituitary gland. *Physiol. Rev.* 28, 139-179 (1948)
- KAWANO, H.-DAIKOKU, S.: Immunohistochemical demonstration of LH-RH neurons and their pathways in the rat hypothalamus. *Neuroendocrinology* 32, 179-186 (1981)
- LIPOSITS, ZS.-GÖRCS, T.-DOMÁNY, S.-TÖRÖK, A.-SÉTÁLÓ, GY. (1983): Silver intensification of the diaminobenzidine endproduct in histochemistry. In ENDRŐCZI, E.-ANGELUCCI, L.-SCAPAGNINI, U.-DE WIED, D. (eds): *Neuropeptides, Neurotransmitters and Regulation of Endocrine Processes*. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1983, pp. 127-134
- LIPOSITS, ZS.-LENGVÁRI, I.-VÍGH, S.-SCHALLY, A. V.-FLERKÓ, B.: Immunohistological detection of degenerating CRF-immunoreactive nerve fibers in the median eminence after lesion of paraventricular nucleus of the rat. A light and electronmicroscopic study. *Peptides* 1984a (Közlés alatt)

- LIPOSITS, ZS.-SÉTÁLÓ, GY.-FLERKÓ, B.: Silver intensified peroxidase antiperoxidase complex-3, 3-diaminobenzidine method II. Light and electron microscopic detection of the LH-RH-system in the rat brain. *Neuroscience* 1984b (Közlés alatt)
- MAZURKIEWICZ, J. E.-NAKANE, P. K.: Light and electron microscopic localization of antigens in tissues embedded in polyethylene glycol with a peroxidase-labeled antibody method. *J. Histochem. Cytochem.* 20, 969-974 (1972)
- MERCHENTHALER, I.-KOVÁCS, G.-LOVÁSZ, G.-SÉTÁLÓ, G.: The preoptico-infundibular LH-RH tract of the rat. *Brain Res.* 198, 63-74 (1980)
- NAKANE, P. K.-KAWAOI, A.: Peroxidase-labeled antibody. A new method of conjugation. *J. Histochem. Cytochem.* 22, 1084-1091 (1974)
- SAFFRAN, M.-SCHALLY, A. V.: Release of corticotrophin by anterior pituitary tissue *in vitro*. *Canad. J. Biochem.* 33, 408-415 (1955)
- SCHALLY, A. V.-ARIMURA, A.-BABA, Y.-NAIR, R. M. G.-MATSOU, H.-REDDING, T. W.-DEBELJUK, L.-WHITE, W. F.: Isolation and properties of the FSH- and LH-releasing hormone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 43, 393-399 (1971a)
- SCHALLY, A. V.-NAIR, R. M. G.-REDDING, T. W.-ARIMURA, A.: Isolation of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone-releasing hormone from porcine hypothalami. *J. Biol. Chem.* 246, 7230-7236 (1971b)
- SÉTÁLÓ, GY.-VÍGH, S.-SCHALLY, A. V.-ARIMURA, A.-FLERKÓ, B.: Immunohistological study of the origin of LH-RH-containing nerve fibers of the rat hypothalamus. *Brain Res.* 103, 597-602 (1976)

- STERNBERGER, L. A.-HARDY, P. H., Jr.-CUCULIS, J. J.-MEYER, H. G.: The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-anti-horseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J. Histochem. Cytochem.* *18*, 315-333 (1970)
- SZENTÁGOTHAÏ, J.: The parvicellular neurosecretory system. In BARGMANN, W.-SCHADÉ, J. P. (eds.): *Lectures on the Progress in Brain Research*. Vol. 5 Elsevier, Amsterdam, 1964, pp. 135-146
- TEJASEN, R.-EVERETT, J. W.: Surgical analysis of the preoptico-tuberal pathway controlling ovulatory release of gonadotropins in the rat. *Endocrinology* *81*, 1387-1396 (1967)
- TIMA, L.-FLERKÓ, B.: Ovulation induced by norepinephrine in rats made anovulatory by various experimental procedures. *Neuroendocrinology* *15*, 346-354 (1974)
- VÍGH, S.-SÉTÁLÓ, GY.-SCHALLY, A. V.-ARIMURA, A.-FLERKÓ, B.: LH-RH-containing nerve fibers in the brain of rats treated with sulpiride or reserpine. *Brain Res.* *152*, 401-405 (1978)

A kiadásért felelős az Akadémiai Kiadó és Nyomda főigazgatója

Felelős szerkesztő: Klaniczay Júlia

A tipográfia és a kötésterv Löblin Judit munkája

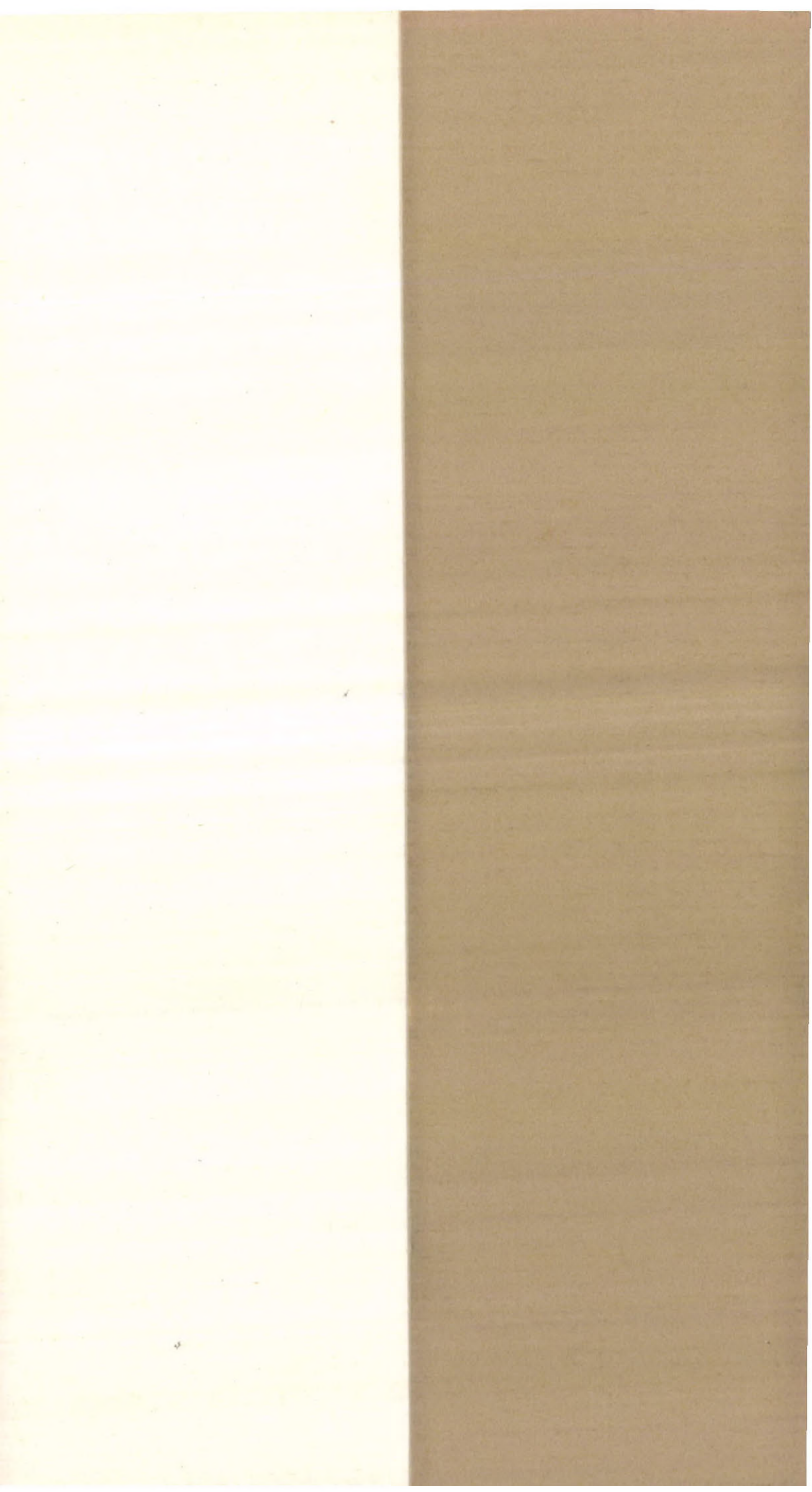
Műszaki szerkesztő: Érdi Júlia

Terjedelem: 2,37 (A/5) ív – AK 1708 k 8487

HU ISSN 0236–6258

84.13444 Akadémiai Kiadó és Nyomda

Felelős vezető: Hazai György



Ára: 17,- Ft